



TITLE:

HtrA1 Is Specifically Up-Regulated in Active Keloid Lesions and Stimulates Keloid Development(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Yamawaki, Satoko

CITATION:

Yamawaki, Satoko. HtrA1 Is Specifically Up-Regulated in Active Keloid Lesions and Stimulates Keloid Development. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-11-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13291>

RIGHT:

<https://doi.org/10.3390/ijms19051275>

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	山 脇 聖 子
論文題目	HtrA1 Is Specifically Up-Regulated in Active Keloid Lesions and Stimulates Keloid Development (HtrA1 はケロイド病変の活動性が高い部位に高発現し、ケロイドの発達を促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p>ケロイドは創傷治癒過程の異常から生じる皮膚線維性疾患で、真皮内の細胞外マトリックスの異常蓄積と線維芽細胞の増生を特徴とする。皮膚の傷あとから赤色で硬い隆起性病変が生じ、疼痛、掻痒を引き起こす。予防接種や虫刺されなど、軽微な傷からも発症し、もとの傷の範囲を越えて拡大する。ケロイドの発生病理については不明な点が多く、難治性である。ステロイド局所注射や貼布剤による対症療法が実施されるが、中止すると再発する。外科的切除と放射線照射の併用が一定の効果を示すが、治癒率は 28～89%と差があり、病態解明と新たな治療法の開発が重要な課題である。</p> <p>これまでに、ケロイド組織における遺伝子発現プロファイルを解析し、High temperature requirement factor 1(HtrA1)が高発現していることを発見した。HtrA1 は、バクテリア HtrA (DegP) の哺乳類ホモログのひとつであり、セリンプロテアーゼとして機能することが知られている。近年、関節炎、加齢性黄斑変性 (AMD)、遺伝性脳小血管病 (CARASIL)、悪性腫瘍等のヒト疾患に密接に関与することが報告されているが、それぞれの病態における分子メカニズムに関しては不明な点が多い。本論文においては、この HtrA1 に着目し、ケロイド組織における局在や機能を調べた。検体として、インフォームドコンセントを得た 30 人のケロイド患者と 12 人の非ケロイド患者から、手術時に摘出したケロイド組織と健常皮膚組織を実験に用いた。</p> <p>まず、ケロイド組織における局在を調べるため、ヒト <i>HtrA1</i> 遺伝子をプローブとして in situ hybridization を実施した。その結果、<i>HtrA1</i> 遺伝子は、活動性の高い病変部辺縁（周囲への拡大傾向を示す部位）で、増生した線維芽細胞に強く発現し、活動性が低い部分や健常皮膚では発現が低下あるいはシグナルが認められなかった。この結果を蛋白レベルで検証するべく、抗ヒト HtrA1 抗体を用いた免疫組織化学的染色と western blot を実施した。免疫組織化学的染色でも同様の傾向を示し、western blot では健常皮膚組織と比較してケロイド病変部に HtrA1 蛋白の強い発現を確認した。免疫組織学的染色において細胞陽性率を計測したところ、HtrA1 の染色率はケロイド組織で 12.4～48.4%（平均 31.9±10.5%）、正常皮膚では 2.1～3.8%（平均 2.8±0.6%）とケロイド組織で有意に高い染色率を示した。以上の結果において、HtrA1 は病変部辺縁の増生した線維芽細胞に発現することから、細胞増殖に対する HtrA1 の影響を調べた。ケロイド由来線維芽細胞において <i>HtrA1</i> をノックダウンすると、有意に細胞増殖が抑制され、リコンビナント HtrA1 蛋白を培地中に添加すると細胞増殖が促進された。一方、正常皮膚由来線維芽細胞では、<i>HtrA1</i> ノックダウンやリコンビナント HtrA1 添加のいずれにおいても細胞増殖に有意な変化を認めなかった。これらの結果より HtrA1 は、ケロイド病変部の辺縁で線維芽細胞に高発現し、細胞の増殖促進を介してケロイドを増大させる可能性が示唆された。このメカニズムについては、これまでの報告から、病変部に過剰蓄積するマトリックスの分解と</p>			

そのフラグメントによる細胞活性や、TGFβ シグナル系の活性化などが推察され、今後の検討が必要であるが、本研究により、 HtrA1 が新規ケロイド治療法開発のターゲットとして有用であることが示された。			
（論文審査の結果の要旨）			
<p>ケロイドは創傷治癒過程の異常から生じる疾患であるが、その病態は依然解明されていない。ケロイド組織の遺伝子発現プロファイルの解析にて High temperature requirement factor (HtrA1) が高発現していることから、HtrA1 のケロイド組織における局在やその機能について調べた。In situ hybridization では、HtrA1 遺伝子はケロイドの活動性の高い病変部で高発現を認めた。抗ヒト HtrA1 抗体を用いた免疫組織化学的染色においては正常皮膚の染色率 2.1～3.8%（平均 2.8±0.6%）に対し、ケロイド組織では 12.4～48.4%（平均 31.9±10.5%）と有意に高い染色率を認めた。ケロイド病変部における HtrA1 蛋白の高発現は western blot 解析でも確認された。さらに、細胞増殖に対する HtrA1 の影響を調べたところ、培養ケロイド由来線維芽細胞において <i>HtrA1</i> をノックダウンすると、有意に細胞増殖が抑制され、リコンビナント HtrA1 蛋白を培地中に添加すると細胞増殖が促進された。一方、正常皮膚由来線維芽細胞では、いずれにおいても細胞増殖に有意な変化を認めなかった。</p> <p>HtrA1 はケロイド内の線維芽細胞に高発現していた。また線維芽細胞の培養実験では細胞増殖を促進させた。従って HtrA1 はケロイドの増大に関与している可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究はケロイドの病態解明に貢献し、新規治療法開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 元 年 1 1 月 1 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			